

Possible roles of ULTRAPETALA in root development

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

vorgelegt von
Melanie Demuth
aus Erfurt

Kiel
2017

Referent/in: Prof. Dr. Margret Sauter

Korreferent/in: Prof. Dr. Eva H. Stukenbrock

Tag der mündlichen Prüfung: 13.06.2017

Zum Druck genehmigt:

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Studie war Expressionen und *in vivo* Funktionen des transkriptionellen Anti-Repressors ULTRAPETALA1 (ULT1) und der mitochondrial lokalisierten ALTERNATIVE NAD (P) H DEHYDROGENASE A1 (NDA1) in Wurzeln von Arabidopsis zu beschreiben. Spezifische Expression von *AtNDA1* und *AtULT1* wurde in der Wurzelhaube von Primärwurzeln festgestellt. Zusätzlich wurde *AtULT1* Expression an Basis und Apex von Lateral- und Adventivwurzeln nachgewiesen. Für die Reishomologe, *OsULT1* und *OsNDA1*, wurde aufgrund differentieller Expression in Epidermiszellen, welche durch Widerstand und reaktive Sauerstoffspezies zum Zelltod programmiert werden, eine mögliche Beteiligung in mechanischer Signaltransduktion vermutet. Daran anknüpfend wurden in Arabidopsis an den Nullmutanten, *nda1-1* und *ult1-3*, Auswirkungen von mechanischen Belastungen auf Morphologie und Wuchsverhalten der Wurzeln analysiert. Es zeigte sich, dass *AtNDA1* und *AtULT1* Wachstum von Primärwurzeln beeinflussen. Die beobachteten Phänotypen schienen jedoch unabhängig von mechanischen Stress aufzutreten. Beim Reis erleichtert mechanisch-induzierter Zelltod der Epidermis das Auswachsen von darunterliegenden Adventivwurzeln (Steffens et al., 2012). In Arabidopsis bestätigten Studien, welche Untersuchungen an *ult1-3 ult2-1* und *AtULT1* überexprimierenden Keimlingen einschlossen, eine *AtULT1*-abhängige Hemmung der Adventivwurzelbildung und der Elongation des Hypokotyls, aus dem diese hervorgehen. Lateralwurzelbildung wurde hingegen durch *AtULT1* Expression begünstigt. In der Primärwurzel wirkte sich genetische Manipulation der *AtULT1* Expression negativ auf das Wachstum aus und führte zu Anomalien bei Teilungsverhalten und Differenzierung der zentralen Wurzelhaube. Gene, welche Erhaltung und Strukturierung des Wurzelmeristems oder Differenzierung der Kalyptra steuern waren jedoch nicht signifikant reguliert. Da Auxingabe zur verstärkten Störung der Wurzelhaubendifferenzierung in *AtULT1 loss-of-function* Keimlingen führte, wurde eine mit Auxin-assoziierte Funktion für *AtULT1* angenommen. In Reis wird *OsULT1* durch den Auxin-induzierbaren Transkriptionsfaktor CROWN ROOTLESS1 reguliert, was wiederum auf eine Beteiligung von *OsULT1* bei der Kronenwurzelinitiierung hindeutet (Coudert et al., 2015). Zusammenfassend zeigte die vorliegende Studie mögliche Rollen von *AtULT1* bei der Wurzelorganogenese auf. In Zukunft könnten

Ansätze wie *ChIPseq* oder *RNAseq* dazu beitragen einen umfassenderen Einblick in die Funktion von AtULT1 in der Wurzelentwicklung zu erhalten.

SUMMARY

In this study, expression and *in vivo* roles of the transcriptional anti-repressor ULTRAPETALA1 (ULT1) and the mitochondrial complex I by-pass protein ALTERNATIVE NAD (P) H DEHYDROGENASE A1 (NDA1) were described in Arabidopsis roots. In primary roots *AtNDA1* and *AtULT1* were both expressed in a root cap-specific manner. *AtULT1* showed additional expression in lateral root tips and at the base of lateral and adventitious roots. Expression patterns of the rice homologs, *OsULT1* and *OsNDA1*, suggested an involvement in mechanical signal transduction that mediates epidermal cell death through reactive oxygen species (ROS) signalling. Hence, in the Arabidopsis *NDA1* and *ULT1* null mutants, *nda1-1* and *ult1-3*, the root response to mechanical stress was analysed. Lack of *AtNDA1* or *AtULT1* altered primary root growth. This phenotype, however, appeared to be independent of an applied force. In rice, mechanically induced cell death of the epidermis facilitates penetration of underlying adventitious roots (Steffens et al., 2012). Analysis of secondary root emergence in Arabidopsis suggested an involvement of *AtULT1* in adventitious root formation and penetration. Further studies that included *ult1-3 ult2-1* knockout and *AtULT1* overexpressing seedlings confirmed a negative effect of *AtULT1* on adventitious root formation and on elongation of the hypocotyl from which they emerge. Lateral root formation, in turn, was favoured by *AtULT1* expression. Furthermore, an unbalanced *AtULT1* expression in *ult1-3 ult2-1* and *ULT1ox* seedlings resulted in inhibition of primary root growth and anomalies in division planes and differentiation of the central root cap. However, genes responsible for root meristem maintenance, columella differentiation and radial patterning were not significantly regulated. Instead, an auxin-associated function of *AtULT1* was suggested by the observation that abnormal differentiation of the root cap was enhanced by auxin in *AtULT1* knockout seedlings. Interestingly, in rice *OsULT1* is regulated by the auxin-inducible transcription factor CROWN ROOTLESS1, indicating a possible involvement of *OsULT1* in crown root emergence (Coudert et al., 2015). In summary, the study revealed a function of *AtULT1* in root organogenesis. Future approaches using ChIPseq or RNAseq might help identify direct gene targets to provide a more comprehensive insight into ULTRAPETALA function in root development.